

Т.И. Козарезова\*,  
Н.Н. Климкович\*,  
Е.И. Слобожанина\*\*

\*Белорусская медицинская  
академия последипломного  
образования, г. Минск,

\*\*Институт фотобиологии  
Национальной Академии Наук  
Беларуси, г. Минск

## Приобретенные апластические анемии у детей в Республике Беларусь (эпидемиология, этиология, механизмы патогенеза, клинико-лабораторная характеристика)

*Проведен эпидемиологический и клинико-лабораторный анализ собственных данных о 67 детях, больных ПАА, за период 1986-1998 гг. в Республике Беларусь. При многофакторном эпидемиологическом исследовании установлено, что средний уровень заболеваемости ПАА детей 0-15 лет за 13-летний период составил 2 случая на 1 млн. детского населения в год с ежегодным темпом прироста 0,02 ‰. Рассмотрены вопросы этиопатогенеза, где возможными факторами являются сочетанное действие малых доз радиации, химических веществ, вирусов, снижение антиоксидантной защиты эритроцитов, усиление свободно-радикальных процессов, изменение физико-химических свойств эритроцитарных мембран. Дана клинико-лабораторная характеристика ПАА. Изучена летальность, продолжительность жизни и вероятность выживаемости детей с ПАА в зависимости от терапевтического подхода.*

### Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением в Республиканском научно – практическом центре детской онкологии и гематологии (РНПЦДОГ) МЗ Республики Беларусь (РБ) в период 1986-1998гг. находилось 67 детей (38 М и 29 Д), больных ПАА, в возрасте от 4 до 15 лет. Из них 63 ребенка проживали в РБ и 4 – в других регионах СНГ. Диагноз верифицирован на основании общепринятых исследований: клиники, гемо- и миелограмм, данных трепанобиопсии. Экологический мониторинг включал оценку радиационной обстановки в районе проживания обследованных детей, определение в крови уровня тяжелых металлов (свинец и ртуть) энергодисперсионным рентгенофлуоресцентным методом (спектрометр «Спектрейс – 5000», фирма «Трактор – Икс – рей», Нидерланды). Определение уровня свинца (Pb) и ртути (Hg) в крови проводилось в Научно – исследовательском клиническом институте радиационной медицины и эндокринологии МЗ РБ к.б.н. Петровой В. С. По данным Американской ассоциации педиатров допустимым уровнем содержания Pb в крови является 0,100 мг/л, Hg - 0,022 мг/л. Расчет дозы внешнего облучения

( $D_{\text{внеш}}$ ) осуществлялся по среднему значению мощности экспозиционной дозы (МЭД), измеренной в населенном пункте в воздухе на высоте 1 м над поверхностью земли. Годовая эффективная эквивалентная доза (ГЭЭД) внешнего облучения за счет выпадений после аварии на ЧАЭС определялась по формуле:  $D_{\text{внеш}} = K_{\text{общ}} \cdot K_{\text{защ}} \cdot (P_{\text{г}} - P_{\text{о}})$ , где  $D_{\text{внеш}}$  – ГЭД внешнего облучения (мЗв в год);  $K_{\text{общ}}$  – обобщенный коэффициент перехода МЭД в воздухе на высоте 1 м к ГЭД внешнего облучения тела человека, равный 0,053 мЗв в год<sup>-1</sup>;  $K_{\text{защ}}$  – безмерный коэффициент, характеризующий сезонные колебания МЭД, различные режимы поведения и защитные свойства;  $P_{\text{г}}$  – средняя МЭД в населенном пункте мЗв в год<sup>-1</sup>;  $P_{\text{о}}$  – средний уровень доаварийного фона гамма – излучения в населенном пункте мЗв в год<sup>-1</sup>. Значения  $K_{\text{защ}}$  для различных типов населенных пунктов: село – 0,41; поселок городского типа – 0,30; город – 0,24. Эндогенное содержание радионуклидов цезия 137 (<sup>137</sup>Cs) в организме определяли с помощью счетчика излучения человека (СИЧ). Уровень трансферрина (ТФ) в сыворотке крови определяли турбодиметрически по реакции преципитации комплексов антиген – антитело на аппарате «Behring Turbitim» фирмы «Behringer»; сывороточного ферритина (СФ) – радиоиммунометрическим методом, используя стандартные диагностические наборы R – 1 – grostFerritin («Behringer», Германия); концентрацию сывороточного эритропоэтина (s - ЕРО) – радиоиммунным методом с помощью наборов “Eritropoietin” (“Amgen”, США). Активность супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах (Er) – по степени ингибирования реакции супероксид – зависимого окисления квертицина, каталазы в Er – по методу, основанному на регистрации убыли перекиси водорода в реакционной среде. Активность глутатионпероксидазы (ГП) и содержание глутатиона восстановленного (ГВ) в Er – спектрофотометрическим методом, глутатионредуктазы (ГР) в Er – по методу Wendel A. Количество витаминов А, Е и С в сыворотке крови измеряли флуориметрическим методом. ТБК – активные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по Dahle L. K. et al. Осмотическую резистентность Er оценивали по величине оптической плотности гемоглобина ( $\lambda = 540$  нм), вышедшего из гемолизированных клеток в гипотонических растворах NaCl после 20-минутной инкубации при комнатной температуре. Устойчивость Er к тепловому воздействию оценивали

по кинетике гемолиза клеток в изотоническом растворе NaCl при  $t = 60-62^{\circ}\text{C}$ . В результате математической обработки  $S$  – образных кривых термогемолиза получали следующие параметры:  $K_1$  – константу скорости лаг – фазы,  $K_2$  – константу скорости гемолиза и  $S$ -параметр, характеризующий степень неоднородности популяции Ег. Резистентность Ег к действию окислителей – по кинетике гемолиза клеток, инкубированных в присутствии 1 мМ аскорбиновой кислоты. Эритроцитарные мембраны выделяли по методу Dodge et al. Активность мембраносвязанной ацетилхолинэстеразы (АХЭ) исследовали по методу Ellman G. Z. et al., концентрацию белка в мембранах Ег – модифицированным методом Лоури. Для тестирования мембранных липидов использовали липофильный флуоресцентный зонд пирен – измеряли коэффициент эксимеризации пирена (Кэкс), включенного в тени (мембраны) Ег.

### Результаты и обсуждение

Эпидемиологические исследования ПАА у детей в РБ и её отдельных регионах проводились за 13-летний период (1986-1998 г.г.). Основным методологическим подходом являлся проспективный метод с ретроспективно составленной когортой. Заболеваемость рассчитывалась на 100 тыс. детского населения ( $\text{‰}$ ). Демографическая структура детского населения изучена на основании документов Госкомстата РБ.

Таблица 1. Заболеваемость ПАА (абсолютное число и  $\text{‰}$ ) детей от 1 до 15 лет по отдельным регионам Республики Беларусь за период 1986-1998 гг.

| Регион                     | Численность детского населения | Общая заболеваемость |             | Заболеваемость мальчиков |             | Заболеваемость девочек |             |
|----------------------------|--------------------------------|----------------------|-------------|--------------------------|-------------|------------------------|-------------|
|                            |                                | абс.число            | $\text{‰}$  | абс.число                | $\text{‰}$  | абс.число              | $\text{‰}$  |
| Брестская обл.             | 4537494                        | 13                   | 0,29        | 7                        | 0,16        | 6                      | 0,13        |
| Витебская обл.             | 3902604                        | 4                    | 0,10        | 1                        | 0,02        | 3                      | 0,08        |
| Гомельская обл.            | 4810272                        | 9                    | 0,19        | 6                        | 0,12        | 3                      | 0,07        |
| Гродненская обл.           | 3424949                        | 7                    | 0,20        | 5                        | 0,15        | 2                      | 0,05        |
| Могилевская обл.           | 3632343                        | 8                    | 0,22        | 5                        | 0,14        | 3                      | 0,08        |
| Минская обл.               | 4639135                        | 8                    | 0,17        | 4                        | 0,09        | 4                      | 0,09        |
| Г. Минск                   | 4747905                        | 14                   | 0,29        | 5                        | 0,10        | 9                      | 0,19        |
| <b>Республика Беларусь</b> | <b>29694702</b>                | <b>63</b>            | <b>0,21</b> | <b>33</b>                | <b>0,11</b> | <b>30</b>              | <b>0,10</b> |

Таким образом, частота ПАА у детей в РБ за период 1986-1998 гг. в различных регионах была различна в зависимости от пола и места проживания, что носит закономерный характер и связано, вероятно, как с анатомо-физиологическими особенностями гемопоэза у мальчиков и девочек, так и с экологической характеристикой региона.

Как видно из табл. 1, за данный период среднемноголетний уровень общей заболеваемости по РБ составил 0,21  $\text{‰}$ . Максимальная частота ПАА за указанный период отмечена в Брестской области и г. Минске, а минимальная в Витебской области, где этот показатель был ниже в 1,8-2,9 раза, чем в других регионах республики. Уровень заболеваемости ПАА детей в Гомельской, Могилевской и Гродненской областях был одинаков и не отличался от среднемноголетнего по РБ за период 1986 – 1998 г.г. Сравнительный анализ уровня заболеваемости ПАА мальчиков за анализируемый период показал, что в Витебской области частота данной патологии среди них была в 4,5 – 8 раз ниже, чем в других регионах республики. Заболеваемость ПАА девочек за 13 – летний период в среднем по РБ составила 0,10  $\text{‰}$ , где максимальная частота отмечена у девочек в г. Минске и Брестской области, а минимальная – в Гродненской области. Сопоставление уровня заболеваемости мальчиков и девочек по всем регионам РБ позволило установить, что в Витебской области и г. Минске ПАА девочки болели чаще, чем мальчики. В Гомельской, Гродненской и Могилевской областях уровень заболеваемости данной патологией в период 1986-1998 гг. был выше у мальчиков. С одинаковой частотой болели ПАА девочки и мальчики Брестской и Минской областей.

Заболеваемость данной патологией детей города и села за период 1986-1998 гг. также имела значительные отличия (рис. 1).

Как видно, частота ПАА детского городского населения была в 2,5 раза выше, чем сельского. На наш взгляд это обусловлено урбанизацией и комбинированным неблагоприятным экологическим воздействием (МДР, техногенное загрязнение) [4].

Место проживания      Уровень заболеваемости, ‰

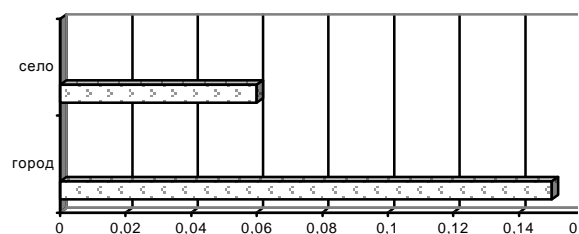


Рис. 1. Заболеваемость (‰) ПАА детей РБ за период 1986-1998 г.г. в зависимости от места проживания

Среди возрастных групп максимальный уровень заболеваемости ПАА приходился на детей в возрасте 10-15 лет и был выше в 2,75 раза, чем в группе 1-5 лет и в 1,8 раза, чем в группе 5-10 лет (рис. 2). Высокая частота в данной возрастной группе может быть обусловлена, во-первых, гормональной перестройкой в пре- и пубертатный периоды, во-вторых, уменьшением массы лимфоидных органов, подавлением клеточного звена иммунитета и стимуляцией его гуморального звена, а также усилением воздействия экзогенных факторов на иммунную систему [5].

С целью определения временных различий уровня заболеваемости ПАА у детей в РБ за указанный период проведен анализ динамики частоты данной патологии, который позволил разделить весь 13-летний период на три временных интервала в зависимости от уровня заболеваемо-

сти по сравнению со среднегодовым по РБ (табл. 2).

Уровень заболеваемости, ‰      Возраст

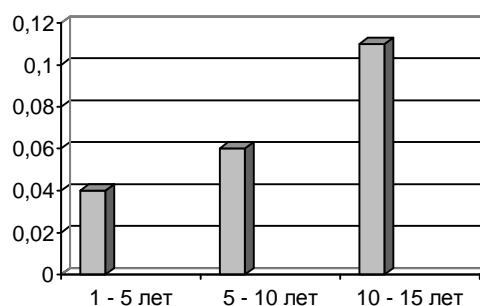


Рис. 2. Заболеваемость (‰) ПАА детей РБ за период 1986-1998 гг. в зависимости от возраста

1. Уровень заболеваемости ниже среднегодового по республике: 1987, 1988, 1989 гг.
2. Уровень заболеваемости выше среднегодового по республике: 1991, 1992, 1994, 1996, 1997 гг.
3. Уровень заболеваемости сопоставим со среднегодовым по республике: 1986, 1990, 1993, 1995, 1998 гг.

Высокая частота данной патологии в 1991, 1992, 1994, 1996, 1997 гг. связана с ухудшением экологической обстановки за счет техногенного загрязнения [2].

Таблица 2 Динамика заболеваемости (абс.число и ‰) ПАА детей от 1 до 15 лет по Республике Беларусь за период 1986-1998 гг.

| Год                                  |                 | 1986    | 1987    | 1988    | 1989    | 1990    | 1991    | 1992    | 1993    | 1994    | 1995    | 1996    | 1997    | 1998    |
|--------------------------------------|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Численность<br>детского<br>населения |                 | 2310756 | 2319238 | 2337047 | 2356996 | 2355211 | 2345161 | 2341377 | 2342144 | 2317594 | 2271863 | 2215338 | 2175294 | 2005683 |
| Заболевае-<br>мость                  | абс. чис-<br>ло | 5       | 1       | 2       | 3       | 4       | 9       | 8       | 5       | 7       | 4       | 6       | 6       | 3       |
|                                      | ‰               | 0,22    | 0,04    | 0,09    | 0,13    | 0,17    | 0,38    | 0,34    | 0,21    | 0,30    | 0,18    | 0,27    | 0,28    | 0,15    |

На основании построения прогностической трендовой модели установлена тенденция к дальнейшему постепенному увеличению уровня заболеваемости ПАА среди детского населения с ежегодным темпом прироста на 0,02 ‰ (рис. 3).

Полученные результаты многофакторного эпидемиологического исследования свидетельствуют о различном уровне заболеваемости ПАА детей по регионам РБ, где максимальный показатель частоты этой патологии зарегистрирован в Брестской области и г. Минске. Отмечен высокий уровень ПАА в возрастной группе 10 – 15 лет и у детей, проживающих в городе. Частота

заболеваемости у мальчиков и у девочек была различной в зависимости от региона. Прогностическая модель указывает на тенденцию к росту заболеваемости ПАА у детей в РБ с ежегодным темпом прироста 0,02 ‰.

Нами обследовано 67 детей в возрасте от 4 до 15 лет, больных ПАА и находящихся на лечении в РНПЦДОГ МЗ РБ. Медиана возраста обследованных составила 6,8 лет, соотношение мальчики: девочки = 1,3:1. На основании международных критериев депрессии гемопоэза [8] больные были распределены в зависимости от степени тяжести ПАА (рис. 4). Наибольший

удельный вес приходился на больных ПАА с тяжелой степенью тяжести (31 ребенок), со сверхтяжелой было 20 детей и с нетяжелой – 16 больных. Продолжительность додиагностического периода была различной (рис. 5). Среди наблюдаемых детей преобладали больные (64,2%) с додиагностическим периодом до 1 месяца. Проведенный экологический мониторинг позволил установить, что 66,7 % больных проживали на территориях с естественным радиоактивным фоном (до 1 мЗв) и 33,3 % - на террито-

риях с плотностью загрязнения от 37 до 592 кБк/м<sup>2</sup> по <sup>137</sup>Cs. Уровень в крови Pb и Hg определен у 63,5 % больных. Анализ этих показателей выявил у 47,6 % повышенное содержание в крови Pb ( $0,126 \pm 0,007$  мг/л), у 27,5 % - Hg ( $0,063 \pm 0,008$  мг/л), у 22,5 % - обоих токсикантов Pb и Hg ( $0,124 \pm 0,005$  мг/л и  $0,071 \pm 0,007$  мг/л) по отношению к контролю ( $0,077 \pm 0,008$  мг/л и  $0,024 \pm 0,006$  мг/л соответственно). Таким образом, наблюдаемые дети подверглись воздействию как МДР, так и химических факторов.

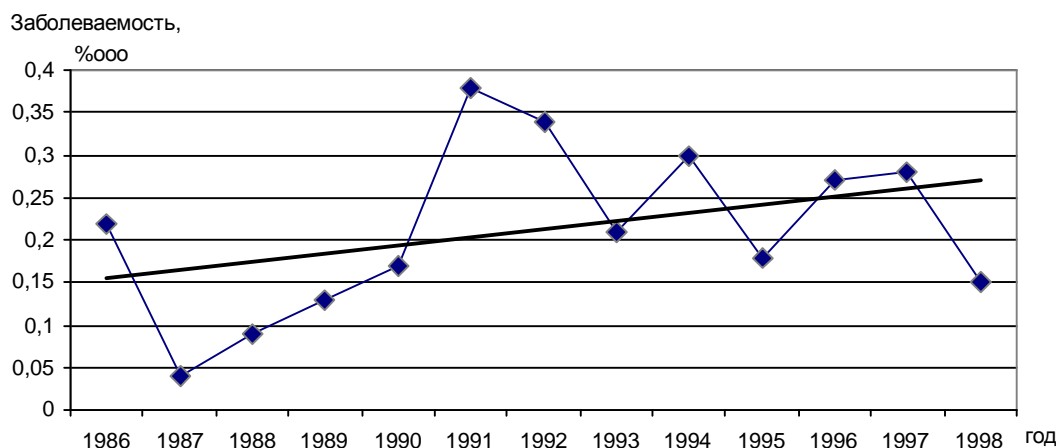


Рис.3. Динамика (—♦—) и трендовая направленность (—) заболеваемости ПАА детей 1-15 лет по РБ за период 1986-1998 гг.

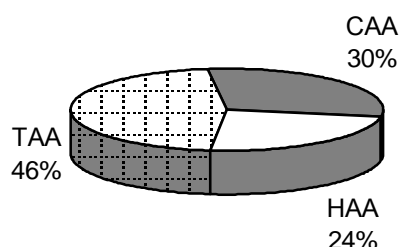


Рис. 4. Распределение больных в зависимости от степени тяжести ПАА

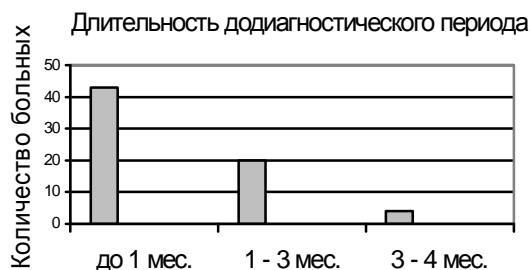


Рис. 5. Распределение больных с ПАА в зависимости от длительности додиагностического периода

Причину заболевания у 53,7 % больных установить не удалось, поэтому эти формы ПАА были расценены как идиопатические. Наибольшее влияние среди возможных этиологических факторов имели вирусные инфекции: грипп, инфекционный мононуклеоз, ветряная оспа, острый или хронический гепатит (22,3 %), бактериальные и грибковые инфекции (14,9 %), вакцинация (7,5 %). Экспозиция между воздействием предполагаемой причины и появлением первых клинических признаков составила в среднем 2,4 месяца. Для уточнения роли вирусной инфекции как этиологического фактора проведены вирусологические исследования крови, слюны и мочи. Из 47 обследованных на наличие вирусной инфекции у 21 больного обнаружены антигены вируса простого герпеса, у 4 детей - цитомегаловируса, у 6 – наличие вирусов гепатита В или С. Сочетание вирусного гепатита В и С выявлено у 2 детей.

Оценка иммунофенотипирования лимфоцитов костного мозга (КМ) у 61,2 % детей показала реверсию соотношения иммунорегулирующих субстанций лимфоцитов. Отмечено снижение количества CD<sub>4+</sub> клеток и увеличение CD<sub>8+</sub> при резком снижении иммунорегуляторного индекса менее 1,0.

Количество СФ и уровень s – ЕРО у детей с ПАА ( $902,71 \pm 14,60$  нг/мл и  $1744,0 \pm 20,6$  МЕ/мл

соответственно) достоверно превышали данные значения в контрольной группе ( $34,38 \pm 4,06$  нг/мл и  $35,9 \pm 1,4$  МЕ/мл соответственно). Среднее содержание ТФ не имело достоверных отличий от контрольных показателей ( $2,59 \pm 0,41$  г/л и  $2,61 \pm 0,38$  г/л соответственно).

Как было нами показано ранее, в патогенезе панмиелопатий значительную роль играет АОС защиты Ег [3, 9]. Состояние ферментативной и неферментативной АОС изучено у 46 детей с ПАА. Результаты показателей АОС защиты представлены в табл. 3. Как видно из таблицы среднее значение активности эритроцитарной СОД достоверно снижено по отношению к кон-

тролю. Наряду со снижением активности СОД у детей с ПАА выявлено увеличение активности каталазы и ГП по отношению к контролю. Полученные данные указывают, что снижение активности СОД является признаком истощения метаболических процессов в клетке, а повышение активности ферментов каталазы, ГП на фоне действия экологически неблагоприятных факторов - либо как адаптационная реакция, направленная на поддержание физиологического гомеостаза больного организма к изменившимся условиям внешней среды, либо как патогенетическое звено данной патологии.

Таблица 3. Показатели АОС в Ег детей, больных ПАА

| Группы        | Показатели АОС     |                    |                    |                   |                   |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|               | СОД, мкг/мл        | каталаза, мккат/мл | ГП, мкмоль/мл/мин  | ГР, мкмоль/мл/мин | ГВ, мкмоль/мл     |
| ПАА n=46      | $32,88 \pm 0,86^*$ | $0,46 \pm 0,03^*$  | $59,95 \pm 1,42^*$ | $1,92 \pm 0,08$   | $4,77 \pm 0,28^*$ |
| Контроль n=28 | $42,28 \pm 1,14$   | $0,37 \pm 0,02$    | $42,98 \pm 1,29$   | $2,10 \pm 0,18$   | $6,17 \pm 0,16$   |

Примечание: \* - наличие достоверности различий по отношению к контролю

Исследования ПОЛ по содержанию ТБК-продуктов в плазме крови проводилось у 46 детей с ПАА. Установлено, что количество ТБК-продуктов достоверно повышено по отношению к контролю и составляет  $3,07 \pm 0,06$  нмоль/мл и  $1,98 \pm 0,08$  нмоль/мл соответственно. Причем наиболее выраженная активация ТБК-продуктов наблюдалась у больных с повышенным уровнем в крови токсикантов (Рb или Рb и Нg) на фоне МДР. Полученные данные свидетельствуют о кратковременной защитно-адаптационной реакции эритрона на действие неблагоприятных факторов внешней среды. Усиление процессов ПОЛ приводит к гиперпродукции высокоактивных радикальных соединений, ингибированию активности СОД, определяет высокую степень повреждения эритроцита и усугубляет тяжесть анемического синдрома.

Для уточнения влияния негативных факторов внешней среды и роли свободно-радикальных процессов в патогенезе ПАА проведено сопоставление показателей активности СОД, количества Нb и Ег в ПК и уровня в крови Рb и Нg. Установлена обратная корреляционная зависимость между выраженностью анемического синдрома и активностью СОД ( $r = -682$ ,  $p < 0,01$ ), СОД и уровнем Рb и Нg в крови ( $r_1 = -612$ ,  $p_1 < 0,01$ ;  $r_2 = -603$ ,  $p_2 < 0,01$ ). В генезе ПАА прослеживается действие негативных факторов, приводящих к окислительному стрессу, усилению свободнорадикальных процессов и их повреждающему действию на эритроидную клетку. Кроме того, снижено количество ГВ в Ег больных АА по отношению к контролю, что указывает на угнетение антиоксидантной первичной системы защиты на фоне свободнорадикальных процессов. Данное положение под-

тверждается прямой корреляционной зависимостью между тестами, отражающими анемический синдром (количество Нb и Ег), и концентрацией ГВ в Ег ( $r = 0,602$ ;  $p < 0,01$ ).

Таким образом, оценивая в целом результаты исследований содержания ТБК-продуктов в плазме крови и состояние АОС Ег, можно сделать заключение, что у детей с ПАА имеются нарушения как ферментативной, так и неферментативной АОС защиты, а также процессов пероксидации, усиливающихся на фоне сочетанного действия МДР и токсических веществ, обладающих повреждающим действием на эритроцит. В этиопатогенезе ПАА у детей прослеживается комбинированное действие экологически неблагоприятных факторов (МДР, Рb и Нg), приводящих к окислительному стрессу в Ег и усилению свободнорадикальных реакций.

Проведено исследование ряда биофизических показателей Ег и их мембран у детей с ПАА (табл. 4).

Как видно из табл. 4, осморезистентность Ег при ПАА не отличалась от показателя в контрольной группе. Устойчивость Ег к действию окислителя (1мМ аскорбиновой кислоты при 25°C) достоверно изменяется у детей с ПАА по отношению к контролю. Изучение кинетических параметров термогемолиза Ег детей с ПАА позволило выявить достоверное отличие отношения  $K_2/K_1$ ,  $S_4$  и  $C_1$  по сравнению с контролем, что указывает на снижение устойчивости Ег к высокой температуре. Уменьшение терморезистентности Ег связано, вероятно, с изменением состояния Нb, взаимодействующего с мембраной клетки. Установлено, что у больных ПАА средний уровень метгемоглобина в Ег увеличен по сравнению с контролем. Осмо- и терморезистентность

Ег характеризуют механическую прочность их мембран, которая формируется в результате белок – липидных и липид – липидных взаимодействий [7]. Обнаруженное нами изменение терморезистентности Ег мембран может быть связано не только с увеличением концентрации мембраносвязанного метгемоглобина, но и с нарушением указанных взаимодействий.

Известно, что одним из маркеров структурного состояния поверхностных компонентов мембран Ег является мембраносвязанная АХЭ [6]. У больных ПАА зарегистрировано досто-

верное снижение Км по сравнению с контролем (табл. 5). Так как АХЭ относится к липидзависимым ферментам, то изменение этого параметра может быть связано с модификацией физико-химического состояния липидной фазы мембран Ег. Подтверждением этого предположения служит достоверное снижение Кэкс пирена, включенного в тени Ег детей с ПАА, по отношению к показателю контрольной группы, что указывает на увеличение микровязкости мембранных липидов (табл. 5).

Таблица 4. Показатели осморезистентности, термогемолиза и окислительного гемолиза эритроцитов у детей с ПАА

| Группы   | Количество детей | Осморе-зистентность $C_{1/2}$ (мМ) | Показатели термогемолиза (отн.ед.) |                |                  |                  | Показатели окислительного гемолиза |                 |
|----------|------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------------------------|-----------------|
|          |                  |                                    | $K_2/K_1$                          | $S_3$          | $S_4$            | $C_1$            | $T_{1/2}$ (мин)                    | $C_{MetHb}$ (%) |
| ПАА      | 15               | $65,0 \pm 1,2$                     | $2,2 \pm 0,2$ *                    | $15,8 \pm 0,8$ | $33,5 \pm 1,1$ * | $1,7 \pm 0,07$ * | $33,4 \pm 3,2$                     | $28,4 \pm 5,2$  |
| Контроль | 17               | $64,6 \pm 1,4$                     | $2,6 \pm 0,1$                      | $16,9 \pm 0,7$ | $30,5 \pm 0,5$   | $1,4 \pm 0,06$   | $29,7 \pm 4,4$                     | $19,7 \pm 2,2$  |

Примечания:

\* - наличие достоверных различий по отношению к контролю;

$C_{1/2}$  – концентрация NaCl, при которой 50 % находящихся в суспензии Ег подвергаются лизису;

$T_{1/2}$  – время, за которое 50 % находящихся в суспензии Ег подверглось гемолизу;

$C_{MetHb}$  – концентрация метгемоглобина, образовавшегося в Ег в процессе инкубации в присутствии 1мМ аскорбиновой кислоты за  $T_{1/2}$  ;

$K_2/K_1$ ,  $S_3$ ,  $S_4$  и  $C_1$  - см.материалы и методы

Таблица 5. Кинетические параметры мембраносвязанной АХЭ и степень эксимеризации липофильного флуоресцентного зонда пирена, включенного в мембраны Ег детей с ПАА

| Группы      | Кол-во детей | Параметры АХЭ  |                       | Кэкс, отн.ед.     |
|-------------|--------------|--|-----------------------|-------------------|
|             |              | $V_{max}$ , $1 \cdot 10^{-4}$ М/мин/мг мембранного белка | $K_m$ , $10^{-4}$ М/л |                   |
| ПАА         | 15           | $17,6 \pm 3,6$   | $0,63 \pm 0,07$ *     | $0,64 \pm 0,07$ * |
| Контрольная | 17           | $15,7 \pm 1,1$   | $0,85 \pm 0,03$       | $0,94 \pm 0,04$   |

Примечание: \* - наличие достоверных различий по отношению к контролю.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что Ег мембраны являются чувствительными индикаторами при ПАА у детей и участвуют в патогенезе. Это проявляется снижением терморезистентности Ег, изменением параметра активности мембраносвязанной АХЭ и увеличением микровязкости липидов Ег мембран.

С 1995 года в РНПЦДОГ был применен метод комбинированной иммуносупрессивной терапии ПАА [1]. С целью определения эффективности лечения все дети с ПАА были разделены на 2 группы. Первая группа (n = 48) находилась по 1994 год на моно – или политерапии с использованием глюкокортикоидных препаратов, трансфузий эритро- и тромбоцитарной массы, анаболических стероидов, андрогенов, десфералотерапии,

антилимфоцитарного глобулина (5 больных), спленэктомии (7 больных), s – ЕРО (5 детей), Г – КСФ (6 детей). Вторая группа (n = 19) – на комбинированной иммуносупрессивной терапии (1995–1998гг.) по протоколу, включающему антилимфоцитарный глобулин, циклоспорин А, преднизолон и Г – КСФ. Летальность детей I группы составила 63,4 % (из них 8 детей были с САА и 18 детей с ТАА), у больных II группы – 42,3 % (из них у 6 детей была САА и у 5 – ТАА). Вероятность выживания по программе Kaplan – Meier у детей I группы с ТАА и САА была ниже, чем во II и составила 9 % и 30 % соответственно (рис. 6). Средняя продолжительность жизни больных I и II групп – 21,8 мес. и 19,0 мес. соответственно.

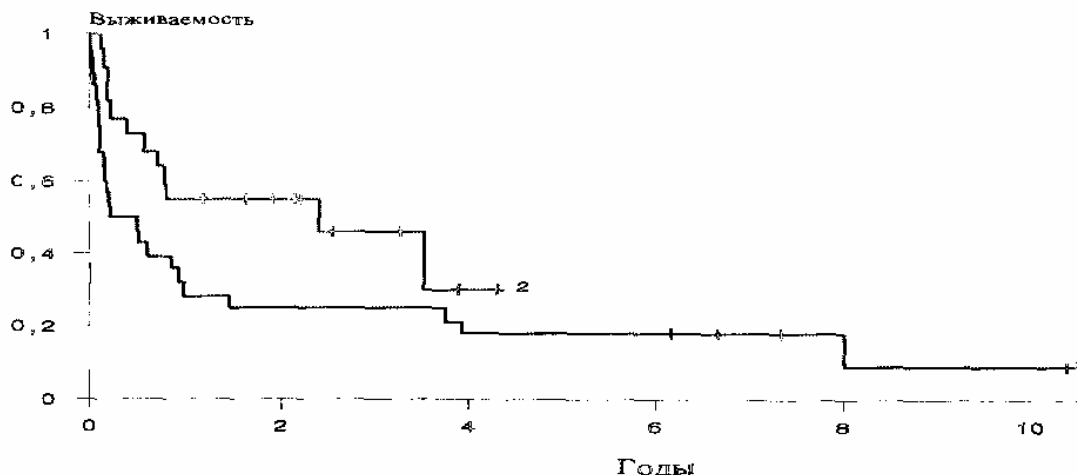


Рис. 6. Вероятность выживания детей с ТАА и САА в I (график 1) и II (график 2) группах

Неблагоприятными прогностическими факторами при ПАА явились:

- идиопатические формы АА,
- наличие вирусного гепатита В или С,
- количество ретикулоцитов в периферической крови (ПК) менее 1 ‰,
- количество нейтрофилов в ПК менее  $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ ,
- количество тромбоцитов в ПК менее  $20 \cdot 10^9/\text{л}$ .

Трансформация в острый миелобластный лейкоз произошла у 4 больных. Летальность (1986-1998гг.) составила 56,7 %. Причинами смерти явились: генерализованный геморрагический синдром — у 55,2 %, инфекционные осложнения — у 44,8 % больных.

### Выводы

Все вышеизложенное свидетельствует, что среднесуточный уровень заболеваемости ПАА детей 0-15 лет по РБ за период 1986-1998гг. составил 0,21 ‰. Установлена (по прогностической модели) тенденция к росту заболеваемости ПАА у детей в РБ с ежегодным темпом прироста 0,02 ‰. Возможными этиопатогенетическими факторами в генезе ПАА являются сочетанное действие МДР, химическое загрязнение окружающей среды, вирусы герпеса, цитомегалии, свободно-радикальные процессы и высокий уровень СФ и снижение АОС защиты Ег. Мембраны Ег детей, больных ПАА, обладают измененной резистентностью к высокой температуре, что связано с увеличением концентрации мембраносвязанного метгемоглобина. Выявленное изменение физико-химического состояния липидного бислоя Ег мембран у детей с ПАА может являться результатом процессов ПОЛ в мембранах Ег. При ПАА в обеих группах в зависимости от терапевтических подходов остается высокая летальность; вероятность выживаемости составила 9% и 30 %

### Литература

1. Алейникова О. В., Алексейчик А. В., Козарезова Т. И., Дунаев И. А. Современный подход в лечении острой приобретенной апластической анемии у детей // *Педиатрия*. — 1995. — № 4. — с. 36 — 38.
2. Каталог доз облучения жителей населенных пунктов Республики Беларусь. Минск. — 1996. — 104 с.
3. Козарезова Т. И. Апластические анемии и миелодиспластический синдром у детей Республики Беларусь (эпидемиология, этиология, молекулярно — мембранные механизмы патогенеза). Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — 1995. — с. 43.
4. Соколов С. М., Филонов В. П. Гигиеническая оценка загрязнения атмосферного воздуха металлами при сжигании различных видов топлива // *Здравоохран. Беларуси*. — 1993. — № 3. — с. 46 — 48.
5. Стефани Д. В., Вельтищев Ю. Е. Иммунология и иммунопатология детского возраста. М.: Москва. — 1996. — с. 281.
6. Aloni B., Livne A. Acetylcholine esterase as a probe for erythrocyte — membrane intactness // *Biochem. Biophys. Acta*. — 1974. — vol. 339. — № 3. — p. 359 — 366.
7. Araki K., Rifkind J. M. The rate of osmotic hemolysis. A relationship with membrane bilayer fluidity // *Biochem. Biophys. Acta*. — 1981. — vol. 645. — № 1. — p. 81 — 90.
8. Camitta B. M., Strob, Thomas E. D. Aplastic anemia // *N. Eng. J. Med.* — 1982. — vol. 306. — p. 645 — 718.
9. Kozarezova T., Slobojanina E. The structural and functional state of red cells membranes in children with acquired aplastic anemias and MDS exposed to the action of low-doses radiation // *Pediatric research*. — 1997. — vol. 41, № 5. — p. 777.